

Aus der Universitäts-Kinderklinik Marburg an der Lahn
(Kommissarische Direktoren: Prof. Dr. med. J. Dittrich
und Prof. Dr. med. U. Willenbockel)

**Nitroblau-Tetrazolium-Reduktionskapazität
von neutrophilen Granulozyten im Blut von
Patientinnen am Tage der Geburt
und sechs Wochen postpartal**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

ELISABETH VIEHMANN
aus Freiburg im Breisgau

Marburg 1977

Druck: Mauersberger, Marburg



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555623_0036

Aus der Universitäts-Kinderklinik Marburg an der Lahn
(Kommissarische Direktoren: Prof. Dr. med. J. Dittrich
und Prof. Dr. med. U. Willenbockel)

**Nitroblau-Tetrazolium-Reduktionskapazität
von neutrophilen Granulozyten im Blut von
Patientinnen am Tage der Geburt
und sechs Wochen postpartal**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

ELISABETH VIEHMANN
aus Freiburg im Breisgau

Marburg 1977

Druck: Mauersberger, Marburg



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 19.8.1977
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät
Dekan: Prof. Dr. F. Neurath
Referent: Prof. Dr. C. Eschenbach
Correferent: Prof. Dr. C.-P. Sodomann

Meinen Eltern
und meinem Mann
in Dankbarkeit gewidmet

Inhalt

1. Einleitung	S. 4
2. Methode	S. 6
2.1. Geräte und Material	S. 6
2.2. Einteilung der Untersuchungsgruppen	S. 7
2.3. Durchführung der Untersuchung	S. 8
2.3.1. Herstellung der NBT-Lösung	S. 8
2.3.2. Herstellung der NBT-Staphylokokkensuspension	S. 8
2.3.3. Berechnung der Zusatzmengen	S. 9
2.3.4. Blutentnahme	S. 10
2.3.5. Ansätze	S. 10
2.3.6. Zählung der Neutrophilen Granulozyten	S. 11
2.4. Auswertung	S. 11
3. Ergebnisse	S. 12
4. Diskussion	S. 20
5. Zusammenfassung	S. 26
6. Literatur	S. 27
7. Lebenslauf	S. 32
8. Verzeichnis der akademischen Lehrer	S. 34

1. Einleitung

In mehreren Veröffentlichungen wurde berichtet, daß die neutrophilen Granulozyten (NG) im Blut von Schwangeren im Vergleich zu gesunden, nicht schwangeren Kontrollpersonen, im Nitroblau-Tetrazolium (NBT)-Test gesteigerte Positivitäten zeigen.

Das Prinzip des NBT-Testes besteht darin, daß Blutzellen in NBT-Lösung inkubiert werden. NBT wird von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten wie von Monozyten ingestiert bzw. gelangt durch Diffusion in das Zellinnere. Die Zelle ist in der Lage, das gelbe, wasserlösliche NBT zu blauem, lichtmikroskopisch sichtbarem, unlöslichem NBT-Formazan zu reduzieren. Als NBT-positiv gelten alle Zellen, in denen NBT-Formazan nachgewiesen wird. Durch dieses Vorgehen gelingt es nicht, den Prozeß der Ingestion und den der Reduktion getrennt zu betrachten, da ingestiertes aber nicht reduziertes NBT lichtmikroskopisch in den Zellen nicht zu identifizieren ist. Eine Aussage darüber, ob eine erhöhte NBT-Positivität durch gesteigerte Ingestion, vermehrte Reduktion oder durch beide Vorgänge bedingt ist, ist nicht möglich. Auch die spectrophotometrische Methode läßt diese Frage offen.

Dagegen finden wir in der Bindung des NBT an hitzegetötete Staphylokokken (Eschenbach, 10) eine Modifikation, die eine differenzierte Bewertung von Ingestions- und Reduktionsverhalten der NG zuläßt. Das an Staphylokokken gebundene NBT wird den NG als Phagozytat angeboten. Ingestierte NBT-Staph sind unabhängig von der NBT-Reduktion lichtmikroskopisch nachweisbar. Man sieht sie im Falle einer ausgebliebenen Reduktion als graubraune, im Falle einer abgelaufenen Reduktion als licht- bis dunkelblaue Partikel. Mit dieser Methode

läßt sich weiterhin das Angebot von NBT-Staph pro phagozytieren-der Zelle variieren und damit eine Korrelation zwischen Angebot und Ingestion wie Angebot und Reduktion herstellen. Außerdem ist es möglich, die Reduktion unabhängig von der Ingestion zu betrachten, da die Reduktion bei definiertem Ingestionsindex bestimmt werden kann. Das erscheint uns von besonderem Interesse, da die oxidativen Zellstoffwechselvorgänge, welche die NBT-Reduktion bewirken, u. a. durch die Ingestion stimuliert werden.

Mit dieser Modifikation des NBT-Testes wurden von Eschenbach et al. (10) die NG von Patienten mit akuten, bakteriellen Infektionen untersucht. Er konnte nachweisen, daß die Erhöhung der NBT-Positivität der NG durch eine vermehrte Ingestion und nicht durch eine gesteigerte Reduktion bedingt ist. Entsprechendes gilt für die NG im Nabelschnurblut gesunder Neugeborener (18).

In der vorliegenden Arbeit werden die NG des Blutes Gebärender und die des Blutes derselben Patientinnen sechs Wochen nach der Geburt mit der erwähnten Modifikation des NBT-Testes untersucht, und die Ergebnisse mit denen einer aus gesunden, nicht schwangeren Personen bestehenden Kontrollgruppe verglichen. Dabei wird die Frage gestellt, ob sich in den Untersuchungsgruppen eine gesteigerte NBT-Positivität der NG findet, und ob diese von einem erhöhten Ingestions- bzw. Reduktionsvermögen der NG oder von beidem abhängt.

2. Methode

2.1. Geräte und Material

- Polystyrolröhrchen (SARSTEDT, Nümbrecht)
Länge 84 mm, Innendurchmesser 14 mm
- Filter Nr. 595 (SCHLEICHER und SCHÜLL, Dassel)
- Heparin (HOFFMAN-LA ROCHE, Basel)
ca 160 IE/mg
- p- Nitroblau-Tetrazolium (NBT)
(SERVA, Heidelberg) $C_{40} H_{30} N_{10} O_6 Cl_2$
MG = 817,7; Bst. Nr. 30550 A
- phosphatgepufferte NaCl-Lösung pH 7,4
- Staphylococcus aureus, Stamm SG 511, kultiviert in
Glukose-Boullion während 24 Stunden, bei 37° C;
anschließend Abtötung der Erreger durch Erwärmung der
Kultur auf 65° für 30 min.
Zahl der Bakterien: 10^{11} - 10^{12} /ml Suspension;
bis zur Verwendung wurde die Suspension in Polystyrol-
röhrchen in Volumina von 8 ml in gefrorenem Zustand
bei -14° C gelagert.¹⁾

¹⁾ Ich danke Herrn Prof. Dr. W. Schiff, Hygiene-Institut
der Universität Marburg, für die Herstellung und Über-
lassung der Staphylokokken-Suspension.

2.2. Einteilung der Untersuchungsgruppen

Untersucht wurden drei Untersuchungsgruppen:

A. gesunde Gebärende innerhalb eines Zeitraumes von zwölf Stunden vor bzw. zwölf Stunden nach der Geburt, n=17

B. dieselben Patientinnen nach Ablauf des Wochenbettes, d. h. sechs Wochen nach der Geburt, n=17 ¹⁾

C. gesunde, nicht schwangere Kontrollpersonen, n=17

Das Alter der Patientinnen in Gruppe A und B lag zwischen 16 und 39 Jahren. Unter ihnen befanden sich sechs I.-, sieben II.-, eine III.-, eine IV.- und zwei V.-Gebärende. Bei allen verlief die Schwangerschaft komplikationslos ohne Früh- und Fehlgeburtsbestrebungen. Die Geburt erfolgte nicht früher als 12 Tage vor dem errechneten Termin und begann ohne vorzeitigen Blasensprung mit spontanen Wehen. Alle Frauen brachten reife, gesunde Kinder mit einem Geburtsgewicht zwischen 2750 g und 4550 g zur Welt. Ausgeschlossen wurden solche Patientinnen, bei denen endokrine Erkrankungen, Zeichen einer EPH-Gestose und chronische oder akute Infektionen während der letzten drei Wochen vor der Geburt und bis zur Untersuchung sechs Wochen nach der Geburt bestanden.

¹⁾ Besonders herzlich danke ich Herrn Dr. R. Stewens, Leitender Arzt der Klinik St. Elisabeth in Marburg/L., für die Erlaubnis, Patientinnen seiner geburtshilflichen Station untersuchen zu dürfen.

Während der Schwangerschaft und im Wochenbett nahmen die Patientinnen abgesehen von Polyvitaminpräparaten (Vitamin A, Vitamin-B₁, -B₂, -B₆, -B₁₂, Vitamin C, Vitamin D, Vitamin E), Secale- und oralen Eisenpräparaten keine Medikamente ein.

Von den siebzehn Frauen stillten acht nicht, fünf vier Wochen oder weniger und vier noch nach Ablauf des Wochenbettes. Sechs Frauen hatten zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung bereits wieder menstruiert.

2.3.

2.3.1. Herstellung der NBT-Lösung

Zur Herstellung der NBT-Lösung wurden 20 mg Nitroblau-Tetrazolium unter Erwärmung auf 37° C in 3 ml phosphatgepufferter NaCl-Lösung gelöst. Die Lösung wurde anschließend bei 37° C filtriert.

2.3.2. Herstellung der NBT-Staphylokokken-Suspension

Als NBT-Träger verwendeten wir staphylococcus aureus SG 511. Unmittelbar vor Verwendung wurde die Suspension in einem Wasserbad von 30 - 35° C schnell aufgetaut. Eine zweimalige Waschung der Staphylokokken erfolgte durch Zentrifugation und Resuspension in phosphatgepufferter NaCl-Lösung. Nach einer dritten Zentrifugation konnten die Staphylokokken in die NBT-Lösung suspendiert werden.

Für das Sediment von 16 ml Staphylokokken-Suspension verwendeten wir 1 ml NBT-Lösung. Durch Inkubation während 60 Minuten bei 37° C erfolgte die Imbibierung der Staphylokokken mit NBT. Um die Zahl

der Staphylokokken/Volumeneinheit festzustellen, wurde ein kleiner Teil der Suspension mit NaCl-Lösung im Verhältnis 1:20 verdünnt und die NBT-Staphylokokken in einer Neubauerkammer mit Hilfe eines Phasenkontrastmikroskopes ausgezählt. Dabei wurden in den von uns verwendeten NBT-Staphylokokken-Suspensionen $2 - 7,5 \times 10^9$ NBT-Staph/ml Suspension gezählt.

2.3.3. Berechnung der Zusatzmengen

Um Ansätze mit unterschiedlichen NBT-Staph-Angeboten pro NG zu erhalten, bestimmten wir bei den Probanden der Gruppe C zunächst die Anzahl der NG pro ml Kapillarblut. Da dies vor Herstellung der Ansätze für die Gruppen A und B technisch nicht möglich war, wurden für die Gruppe A 15×10^6 NG/ml Blut und für die Gruppe B 5×10^6 NG/ml Blut angenommen. Diese Werte entsprechen von uns ermittelten Durchschnittszahlen der NG in 1 ml Venenblut von infektfreien Gebärenden und infektfreien Patientinnen sechs Wochen post partum. Wir berechneten aus der bestimmten Zahl NG/ml Kapillarblut für die Gruppe C bzw. aus der angenommenen Zahl der NG/ml Venenblut für die Gruppen A und B und den bereits ausgezählten NBT-Staph/ml Suspension, das Volumen NBT-Staph-Suspension, das zu 1 ml Venenblut gegeben werden muß, um folgende NBT-Staph-Angebote pro NG zu erreichen: 100, 50, 25, 12,5, 6. Da die später bestimmte wahre Zahl der NG in den Gruppen A und B zum Teil erheblich von der angenommenen abwich, stellten wir in diesen Gruppen auch noch Ansätze für die Angebote 200 und 3 NBT-Staph pro NG her. Nach Ermittlung der wahren Zahl NG/ml Venenblut in den Gruppen A und B konnte für

diese die wirkliche Relation NBT-Staph/NG des Angebotes berechnet werden, die wir endgültig der Gesamtberechnung zu Grunde legten.

2.3.4. Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte in allen drei Gruppen auf die gleiche Weise. Jedem Patienten wurden ca 8 ml Venenblut entnommen und mit 0,2 mg Heparin in einem Polystyrolröhrchen gemischt. Dabei wurde streng darauf geachtet, daß das Blut frei in das Röhrchen floß. Die Weiterverarbeitung erfolgte in körperwarmem Zustand.

2.3.5. Ansätze

Für jeden Ansatz wurde das zuvor ermittelte Volumen an NBT-Staph-Suspension in ein Polystyrolröhrchen pipettiert und mit gepufferter NaCl-Lösung zu 0,5 ml ergänzt. Hierzu gaben wir 1 ml heparinisiertes Vollblut. So entstanden pro Proband in der Gruppe C fünf und in den Gruppen A und B sieben Ansätze. Diese wurden bei 37° C während 30 Minuten inkubiert. Während der Inkubation rotierten die Röhrchen um ihre Längsachse mit einer Geschwindigkeit von 50 - 60 U/min. So kam es zu einem laufenden Kontakt zwischen NG und NBT-Staph. Sofort nach Abschluß der Inkubation wurden von jedem Ansatz zwei dünne, gleichmäßige Ausstriche angefertigt. Diese ließen wir 24 Stunden lufttrocknen und deckten sie ungefärbt mit Eukitt ein.

2.3.6. Zählung der Neutrophilen Granulozyten

Die tatsächliche Zahl NG/ml Venenblut bestimmten wir aus dem für die Ansätze nicht benötigten Blut. Zunächst erfolgte mit dem Zellooskop die Zählung der Leukozyten. Anschließend wurde an Hand des Differentialblutbildes die Anzahl der NG ermittelt. Mit Hilfe dieser Zahlen berechneten wir die wahre Relation NBT-Staph/NG.

2.4. Auswertung

Die Präparate wurden mit Hilfe eines Phasenkontrastmikroskopes in Ölimmersion mit der Vergrößerung 1:800 ausgewertet. Wir bewerteten ausschließlich unbeschädigte Neutrophile Granulozyten, die an Hand von Zellgröße, Kernstruktur, -form und Granulastruktur eindeutig identifiziert werden konnten. Am Ausstrichende beginnend werteten wir an beiden Ausstrichrändern je 50 aufeinanderfolgende NG aus. Dabei zählten wir die von jedem Granulozyten insgesamt ingestierten NBT-Staph und unterschieden graubraune NBT-Staph, deren NBT nicht reduziert war, von hellblauen bis dunkelblauen NBT-Staph, deren NBT reduziert war.

Zur weiteren Auswertung der Ergebnisse berechneten wir folgende Parameter:

1. I N G E S T I O N S I N D E X, definiert als die Zahl der durch 100 NG ingestierten NBT-Staph
(NBT-Staph/100 NG)

2. REDUKTION S I N D E X, definiert als reduzierte NBT-Staph in % der ingestierten NBT-Staph (%)

3. Anteil der ingestierenden NG, definiert als der prozentuale Anteil der an der Ingestion beteiligten NG (NG %)

4. REDUKTION S K A P A Z I T Ä T, definiert als Reduktionsindex bei definiertem, gleichem Ingestionsindex.

Um die Ergebnisse innerhalb einer Gruppe und die der drei Gruppen untereinander vergleichen zu können, interpolierten wir die Parameter 1. 2. und 3. für die Angebote 10, 20, 40 und 60 NBT-Staph/NG und die Reduktionskapazität für die Ingestionsindices 700, 1000 und 1300 NBT-Staph/100 NG.

Zur Berechnung der Signifikanzen der Differenzen der einzelnen Gruppen verwendeten wir den t-Test.

3. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 1a - 1c und 2 (S. 15 u. 16) und in den Tabellen 1 - 5 (S. 17 - 19) dargestellt. Es lassen sich folgende Aussagen machen:

1. Die Ingestions- und Reduktionsindices, wie auch der Anteil der an der Phagozytose beteiligten NG aller Gruppen nehmen mit steigendem Angebot von NBT-Staph/NG zu (Abb. 1a - 1c, S. 15 u. 16, Tab. 1 - 4, S. 17 u. 18).

2. Die Ingestionsindices der Gruppen A (Gebärende) und B (dieselben Patientinnen sechs Wochen postpartal) sind bei allen untersuchten Angeboten von NBT-Staph/NG signifikant höher als die

der Kontrollgruppe C. Die Ingestionsindices der Gruppe A liegen signifikant höher als die der Gruppe B. (Abb. 1a, S. 15, Tab. 1 und 5, S. 17 u. 19)

3. Die Reduktionsindices der Gruppen A und B sind bei allen untersuchten Angeboten von NBT-Staph/NG signifikant höher als die der Kontrollgruppe C. Die Reduktionsindices der Gruppe A liegen signifikant höher als die der Gruppe B. (Abb. 1b, S. 15, Tab. 2 und 5, S. 17. u. 19)

4. Der Anteil der an der Phagozytose beteiligten NG ist bei allen untersuchten Angeboten von NBT-Staph/NG in den Gruppen A und B höher als in der Kontrollgruppe C. In der Gruppe A liegt der Anteil der an der Phagozytose beteiligten NG signifikant höher als in der Gruppe B (Abb. 1c, S. 16, Tab. 3, S. 18).

5. Betrachtet man die Reduktionsindices bei definierten, gleichen Ingestionsindices (Reduktionskapazität), so zeigen die Werte aller drei Gruppen keine signifikanten Differenzen (Abb. 2, S. 16 und Tab. 4 und 5, S. 18 u. 19).

Wir finden also ein signifikant erhöhtes Ingestionsvermögen der NG im Blut von Gebärenden und von Frauen sechs Wochen post partum im Vergleich zu infektfreien, nicht schwangeren Kontrollpersonen. Die Ingestionsindices sechs Wochen nach der Geburt sind aber bereits signifikant niedriger als sub partu. Damit zeigt sich eine deutliche Tendenz zum Absinken auf Normalwerte.

Die Werte der Reduktionsindices sind erwartungsgemäß bei Gebärenden und bei Patientinnen sechs Wochen postpartal signifikant höher als bei infektfreien, nicht schwangeren Kontrollpersonen. Da die

Reduktionsindices sechs Wochen nach der Geburt ebenfalls signifikant niedriger sind als zum Zeitpunkt der Geburt, können wir auch hier eine Tendenz zum Absinken auf Normalwerte erkennen.

Werden die Reduktionsindices aber bei definierten, gleichen Ingestionsindices (Reduktionskapazität) betrachtet, so weisen sie in allen drei Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf. Daraus ist zu folgern, daß die differierende NBT-Positivität der NG in den Untersuchungsgruppen von unterschiedlichem Ingestionsverhalten, nicht aber von unterschiedlichem Reduktionsverhalten der NG abhängt.

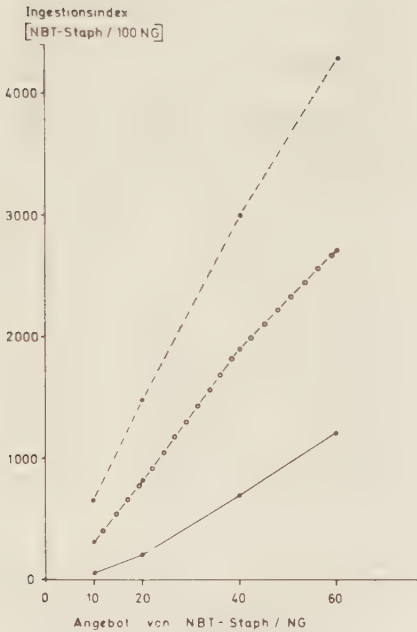


Abb. 1 a

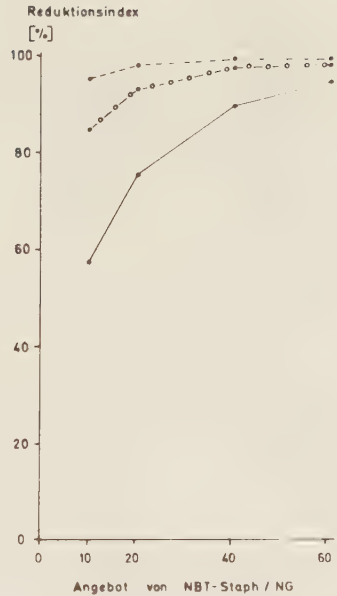


Abb. 1 b

Abb. 1a-c (S. 15 u. 16). Mittelwerte der Ingestionsindices (a), der Reduktionsindices (b) und der Anteil der ingestierenden Neutrophilen Granulozyten in Abhängigkeit vom Angebot von NBT-Staph/NG. •----• = Gruppe A (Gebärende); o-o-o-o = Gruppe B (Patientinnen sechs Wochen postpartal); •——• = Gruppe C (gesunde, nichtschwängere Kontrollpersonen). Die Standardabweichungen sind Tab. 1-3 (S. 17 u. 18) zu entnehmen.

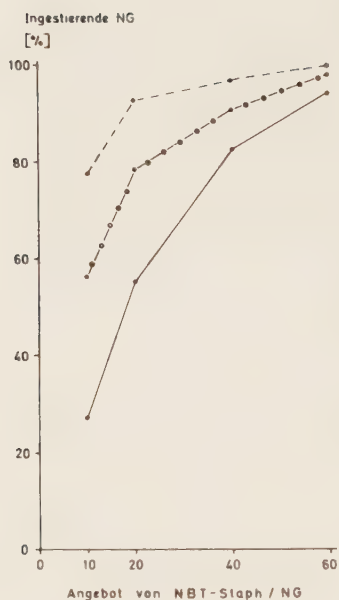


Abb. 1 c

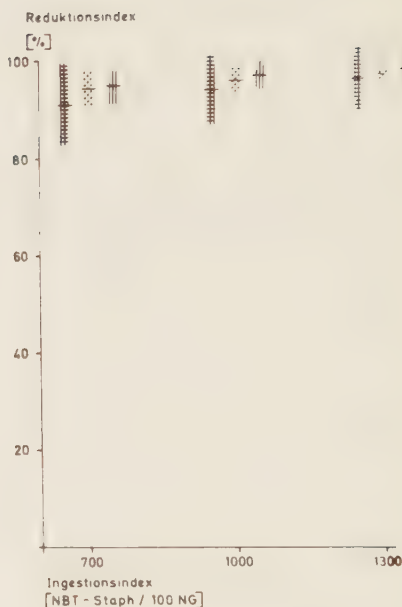


Abb. 2

Abb. 2. Mittelwerte und Standardabweichungen der Reduktionsindices bei definierten, gleichen Ingestionsindices.

||| = Gruppe A (Gebärende); $\circ \circ \circ$ = Gruppe B (Patientinnen sechs Wochen postpartal); $\square \square \square$ = Gruppe C (gesunde, nicht-schwangere Kontrollpersonen).

Angebot:	10	20	40	60
$\bar{x}$ (A)	674,58	1498,58	3044,00	4315,05
$\bar{x}$ (B)	319,17	827,47	1911,82	2726,52
$\bar{x}$ (C)	63,00	213,00	705,00	1221,00
s (A)	313,63	624,44	819,23	858,73
s (B)	240,20	444,13	806,27	802,49
s (C)	36,07	107,90	351,10	463,10

Tab. 1: Ingestionsindices in Abhängigkeit vom Angebot (NBT-Staph/100 NG).

Gruppe A - Gebärende; Gruppe B - dieselben Patientinnen sechs Wochen postpartal; Gruppe C - gesunde, nicht schwangere Kontrollpersonen.

$\bar{x}$ - Mittelwerte der Gruppen; s - Standardabweichungen der entsprechenden Mittelwerte.

Angebot:	10	20	40	60
$\bar{x}$ (A)	95,75	98,53	99,60	99,63
$\bar{x}$ (B)	85,04	93,82	98,20	98,97
$\bar{x}$ (C)	57,57	75,45	90,10	95,23
s (A)	4,12	1,35	0,25	0,10
s (B)	12,62	6,68	1,49	0,98
s (C)	25,43	15,72	9,46	5,25

Tab. 2: Reduktionsindices in Abhängigkeit vom Angebot (%). Vgl. Tab. 1.

Angebot:	10	20	40	60
$\bar{x}$ (A)	77,80	92,88	97,10	99,70
$\bar{x}$ (B)	56,50	78,60	90,90	98,10
$\bar{x}$ (C)	27,25	55,17	82,18	94,28
s (A)	17,00	10,20	7,12	1,10
s (B)	27,90	16,60	9,30	4,20
s (C)	14,93	15,20	12,20	5,28

Tab. 3: Anteil der ingestierenden Neutrophilen Granulo-
zyten in Abhängigkeit vom Angebot (%). Vgl. Tab. 1.

Ing.-Index:	700	1000	1300
$\bar{x}$ (A)	95,35	97,40	98,09
$\bar{x}$ (B)	94,82	96,18	97,30
$\bar{x}$ (C)	91,25	93,90	95,96
s (A)	3,51	2,91	2,39
s (B)	3,61	2,50	1,53
s (C)	8,34	7,23	6,50

Tab. 4: Reduktionsindices bei definierten, glei-
chen Ingestionsindices (NBT-Staph/NG).
Vgl. Tab. 1.

Angebot:	10	20	40	60
<u>1. Ingestionsindices</u>				
Gruppe A - C	sss	sss	sss	sss
Gruppe B - C	sss	sss	sss	sss
Gruppe A - B	sss	ss	sss	sss
<u>2. Reduktionsindices</u>				
Gruppe A - C	sss	sss	ss	ss
Gruppe B - C	ss	sss	ss	s
Gruppe A - B	ss	s	ss	s
<u>3. Ingestierende NG</u>				
Gruppe A - C	sss	sss	sss	sss
Gruppe B - C	sss	sss	ss	s
Gruppe A - B	s	ss	s	ns
<u>4. Reduktionsindices bei definierten, gleichen Ingestions-Indices</u>				
Ing. Index	700	1000	1300	
Gruppe A - C	ns	ns	ns	
Gruppe B - C	ns	ns	ns	
Gruppe A - B	ns	ns	ns	

Tab. 5: Signifikanzen der Differenzen der Ingestions- und Reduktionsindices in Abhängigkeit vom Angebot, wie der Reduktionsindices bei definierten, gleichen Ingestionsindices im Vergleich der Gruppen A, B und C mit Hilfe des t-Testes.

sss - Irrtumswahrscheinlichkeit 0,001; ss - Irrtumswahrscheinlichkeit 0,01; s - Irrtumswahrscheinlichkeit 0,05; ns - keine signifikanten Differenzen.

4. Diskussion

Es wurde nachgewiesen, daß die Ingestion der NG in deren Phagosomen die Reduktion von Sauerstoff zu Sauerstoffsuperoxid und weiter zu Hydrogenperoxid - wohl der wichtigsten bakteriziden Substanz der NG - steigert. Man glaubt, daß dabei entweder NADH oder NADPH als Wasserstoffdonator auftritt. (26) Auch im NBT-Test der NG läuft ein Reduktionsvorgang ab, der ingestionsabhängig ist. NBT wird intrazellulär zu NBT-Formazan reduziert.

Drysdale (9) beschrieb erstmals eine erhöhte NBT-Positivität der NG während der Schwangerschaft im Vergleich zu gesunden, nicht schwangeren Personen. Dieser Autor untersuchte bei mutmaßlicher Appendizitis die NBT-Reduktion von NG und fand unter falsch positiven Ergebnissen die mehrerer Schwangerer. Ramsdale et al (24) beobachtete bei 33 % der von ihm untersuchten schwangeren Frauen eine erhöhte Positivität des NBT-Testes der NG. Fünf bis acht Tage post partum registrierte er bereits wieder Normalwerte. Bei Solanki (25) hingegen zeigten die NG der Wöchnerinnen erst sechs bis acht Wochen postpartal einen Rückgang auf Normalwerte der NBT-Positivität, nachdem während der Schwangerschaft eindeutig erhöhte Werte gefunden worden waren. Arrowsmith (1) erwähnte in einer Arbeit über orale Kontrazeptiva und NBT-Test eine Erhöhung der NBT-Positivität der NG während der Schwangerschaft. Über die Abhängigkeit des Ausfalls des NBT-Testes von der Dauer der Gravidität machte keiner der zitierten Autoren Angaben. Björkstén

et al (2) fand einen Anstieg der NBT-Positivität der NG nur in der Frühphase der Schwangerschaft. Lediglich Park (22, 23) berichtete, keine Erhöhung der NBT-Positivität im Wochenbett gesehen zu haben.

Ebenso wie wir gesteigerte Ingestions- und Reduktionsindices der NG sub partu und im Wochenbett fanden, wurde über eine erhöhte NBT-Positivität der NG gesunder Neu- und Frühgeborener berichtet. (7, 8, 10, 11, 12, 13) Einige Autoren fanden einen Abfall der gesteigerten NBT-Positivität der NG auf Normalwerte zwei (14, 28), vier bis fünf (12) und acht Wochen (23) nach der Geburt.

Über die Auswirkung weiblicher Sexualhormone auf den NBT-Test der NG liegen mehrere Angaben vor. Während der Einnahme von oralen Kontrazeptiva in Form einer Gestagen-Östrogen-Kombination (Kombination von Mestranol mit Ethinodiol bzw. Norethinodrel) konnte Björkstén et al. (2) keine Veränderung des NBT-Verhaltens der NG finden. Dem widersprechen Ergebnisse von Norden et al. (20). Er fand bei insgesamt sechs untersuchten Patientinnen - deren Infektfreiheit nicht ausdrücklich erwähnt wurde - in vier Fällen eine signifikant erhöhte NBT-Positivität der NG, ein Fall zeigte eine geringe Erhöhung und in einem weiteren fehlte jede Beeinflussung. Arrowsmith (1) berichtete über eine fehlende Steigerung der NBT-Positivität der NG bei ausschließlicher Gestagen- bzw. Östrogengabe. Bei der Kombination beider sah er aber eine Erhöhung der NBT-Positivität der NG. Über die Dauer der Hormoneinnahme zum Zeitpunkt der Untersuchung wurde in keiner der drei

Arbeiten eine Angabe gemacht. - Meines Wissens gibt es bisher ebensowenig eine Veröffentlichung über das Verhalten der NBT-Positivität der NG im Verlauf des natürlichen weiblichen Zyklus wie vergleichende Untersuchungen über die NBT-Positivität der NG männlicher und weiblicher Personen.

Von Interesse sind die Befunde von Chretien et al. (4, 5, 6), Matula et al. (16), Miller et al. (17) und Nydegger et al. (21), die eine signifikante Verminderung der NBT-Positivität der NG nach Gaben von Glucocorticoiden beschrieben. Diese Untersuchungsergebnisse konnten von Feigin (11) nicht bestätigt werden. Als Grund der Verminderung der NBT-Positivität der NG nach Gabe von Hydrocortison beschrieben Chretien (4) und Mandel (17) eine NADH-Oxidase-Inhibition.

Eine Beeinflussung der NBT-Positivität der NG durch Steroidhormone scheint nach den referierten Untersuchungen möglich zu sein.

Ramsdale et al. (24) knüpfte allerdings an seine Beobachtungen die Überlegung, daß es sich bei der erhöhten NBT-Positivität der NG von Schwangeren um eine immunologische Antwort der Mutter auf den Feten und wahrscheinlich nicht um einen hormonell bedingten Einfluß handelt. Von Ramsdale nicht in Erwägung gezogen wurde, daß der ebenfalls erhöhten NBT-Positivität der NG von Neu- und Frühgeborenen derselbe Mechanismus zu Grunde liegen könnte.

Die Ergebnisse der zitierten Autoren erlaubten keine Aussage darüber, ob die gesteigerte NBT-Positivität der NG auf eine ver-

mehrte NBT-Ingestion oder eine vermehrte NBT-Reduktion zurückzuführen war. Die von ihnen angewandten Methoden ließen eine Differenzierung beider Funktionen nicht zu. Das hier angewandte Verfahren ermöglicht eine getrennte Betrachtung von Ingestion und Reduktion. Nach der Kopplung des NBT an hitzegetötete Staphylokokken ist das NBT sowohl reduziert als auch nicht reduziert lichtmikroskopisch sichtbar.

Mit dem so modifizierten NBT-Test wurden bereits die NG im Nabelschnurblut Neugeborener (18, 19) sowie im Blut von Patienten mit akuten bakteriellen Infektionen (10) untersucht. Es gelang in den Versuchsanordnungen nachzuweisen, daß die erhöhte NBT-Positivität der NG in Nabelschnurblut Neugeborener und im Blut von Patienten mit akuten bakteriellen Infektionen durch eine vermehrte Ingestion und nicht durch eine vermehrte NBT-Reduktion bedingt ist.

In der vorliegenden Untersuchung zeigen die NG im Blut Gebärender und derselben Patientinnen sechs Wochen nach der Geburt signifikant erhöhte Ingestions- und Reduktionsindices im Vergleich zu gesunden, nicht schwangeren Kontrollpersonen. Die Ingestions- und Reduktionsindices der NG im Blut der Patientinnen sechs Wochen postpartal sind signifikant niedriger als zum Zeitpunkt der Geburt. Betrachtet man die Reduktion bei definierten, gleichen Ingestionsindices, so findet man in den drei Untersuchungsgruppen - Gebärende, Patientinnen sechs Wochen post partum und gesunde, nicht schwangere Kontrollpersonen - keine signifikanten Differenzen. Dies läßt den Schluß zu, daß der beobachteten erhöh-

ten NBT-Positivität der NG im Blut Gebärender und ihr langsames Absinken zum Normwert während des Wochenbettes eine gesteigerte Ingestion und nicht eine gesteigerte Reduktion durch die NG zu Grunde liegt. Der Anteil der an der Phagozytose beteiligten NG im Blut Gebärender und derselben Patientinnen sechs Wochen postpartal ist signifikant höher als bei gesunden, nicht schwangeren Kontrollpersonen. Nach Ablauf des Wochenbettes ist der Anteil der an der Phagozytose beteiligten NG im Blut der Patientinnen signifikant niedriger als zum Zeitpunkt der Geburt. Ein Einfluß des Stillverhaltens der Wöchnerinnen und der teilweise bereits eingetretenen ersten Menstruation post partum auf die Untersuchungsergebnisse konnte nicht festgestellt werden. Die Einnahme von Eisenpräparaten während der Schwangerschaft kann unberücksichtigt bleiben, da nachgewiesen wurde, daß ein Eisenmangel zu einer Erniedrigung der NBT-Positivität der NG führt (3) bzw. ohne Effekt auf diese bleibt (15).

Mehrere Untersucher (1, 20) wiesen einen Einfluß der weiblichen Steroidhormone auf den NBT-Test der NG im Sinne einer erhöhten Positivität nach. Ob man trotz dieser Erkenntnis die gesteigerte Ingestionsfähigkeit der NG sub partu und im Wochenbett nur als Ausdruck der hormonellen Situation sehen darf, ist fraglich. Bis zum Ende der Gravidität nehmen sowohl Progesteron als auch die Östrogene stetig zu. Progesteron erreicht mindestens das Doppelte, die Östrogene mehr als das Zehnfache des Wertes zu Beginn der Schwangerschaft. Mit dem Ereignis der Geburt dagegen ändert sich der Hormonstatus. Die Östrogen- und Progesteronproduktion der Plazenta sistiert sofort. Dies hat einen Abfall der weiblichen Steroidhormone auf kaum meßbare Werte innerhalb weniger Tage postpartal

zur Folge. Lediglich Östriol läßt sich nach der Geburt für kurze Zeit noch einmal im Blut erhöht nachweisen. Man vermutet, daß durch die Kontraktion des Uterus östriolhaltiges Blut ausgepreßt wird (27). Die postpartale Periode muß also insgesamt als ein Zeitraum relativer Steroidverarmung (27) angesehen werden. Der Einfluß weiblicher Steroidhormone auf die NBT-Ingestion der NG von Gebärenden ist nicht auszuschließen. Da im Wochenbett aber eine relative Verarmung dieser Hormone auftritt, das gesteigerte NBT-Ingestionsvermögen der NG jedoch erst langsam, innerhalb mehrerer Wochen zum Normwert absinkt, macht das die Vermutung eines weiteren, noch ungeklärten Mechanismus möglich. Vielleicht weist Ramsdale et al(24) mit der Annahme immunologischer Vorgänge in eine wichtige Richtung.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die erhöhte NBT-Positivität der NG zum Zeitpunkt der Geburt und ihr langsames Absinken zum Normwert während des Wochenbettes die Folge einer gesteigerten Ingestion der NG und nicht einer gesteigerten NBT-Reduktionskapazität der NG ist. Eine Klärung des Mechanismus, der dieser vermehrten Ingestionsfähigkeit der NG zu Grunde liegt, ist bisher nicht möglich.

5. Zusammenfassung

Das Prinzip des Nitroblau-Tetrazolium (NBT)-Testes besteht darin, daß nichtreduziertes NBT der Zelle als Phagozytat angeboten wird und von dieser nach erfolgter Aufnahme zu NBT-Formazan reduziert wird. Bisher verwendete Methoden erlaubten keine Differenzierung des Ingestions- und Reduktionsvorganges. Erst die Kopplung des NBT an hitzegetötete Staphylokokken (10) ermöglicht eine getrennte Betrachtung von Ingestion und Reduktion, da damit nicht nur NBT-Formazan, sondern auch nichtreduziertes NBT in der Zelle lichtmikroskopisch sicher nachweisbar wird.

Mit Hilfe des modifizierten NBT-Testes wird in der vorliegenden Arbeit das Ingestions- und Reduktionsverhalten der neutrophilen Granulozyten im Blut von Gebärenden und derselben Frauen sechs Wochen post partum im Vergleich zu denen gesunder, nicht schwangerer Kontrollpersonen untersucht. Es kann gezeigt werden, daß die signifikant erhöhte NBT-Positivität der neutrophilen Granulozyten der Untersuchungsgruppen auf einer gesteigerten Ingestion und nicht auf einem gesteigerten Reduktionsvermögen der neutrophilen Granulozyten beruht. Die Ingestionsfähigkeit der neutrophilen Granulozyten ist nicht nur zum Zeitpunkt der Geburt erhöht, sondern fällt während des Wochenbettes nur langsam zum Normwert ab. Der Mechanismus, der diese gesteigerte Ingestionsfähigkeit der neutrophilen Granulozyten bedingt, ist bisher nicht geklärt.

6. Literatur:

1. ARROWSMITH, D., MORIN, R.J.:
Oral contraceptives and the NBT-test.
Lancet 1973/I, 148 - 149
2. BJÖRKSTEN, B., SOLHEIM, F.:
Oral contraceptives and the NBT-test.
Lancet 1973/I, 830 - 831
3. CHANDRA, R.K., SARAYA, A.K.:
Impaired immunocompetence associated with
iron deficiency.
J. Pediat. 86, 899 - 902, 1975
4. CHRETIEN, J.H., GORAGUSI, V.F.:
Suppressed reduction of NBT-test by poly-
morphnuclear neutrophils from patients re-
ceiving steroids.
Experientia, 27, 1343, 1971
5. CHRETIEN, J.H., GORAGUSI, V.F.:
Corticoid effect in phagocytosis and NBT-
reduction by human polymorphnuclear neutrophils.
RES 11, 358 - 367, 1972
6. CHRETIEN, J.H., GORAGUSI, V.F.:
NBT-test and steroid therapy.
Lancet 1972/II, 653 - 654

7. COCCI, S., MORI, S., BECATTINI, A.:
NBT-test in premature infants.
Lancet 1969/II, 1426 - 1427
8. COCCI, S., MORI, S., BECATTINI, A.:
Nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils of newborn infants in vitro phagocytosis test.
Acta Paediat. Scand. 60, 475 - 478, 1971
9. DRYSDALE, H.C.:
NBT-test in appendicitis.
Lancet 1972/II, 594
10. ESCHENBACH, C., SEEBACH, G., MÜLLER-LISSNER, ST.:
NBT-Reduktionskapazität von neutrophilen Granulozyten.
Klin. Wschr. 53, 1049 - 1056, 1975
11. FEIGIN, R.D.:
NBT-test in the diagnosis of febrile patients.
New Engl. J. Med. 285, 347 - 348, 1971
12. GOEL, K.M., VOWELS, M.R.:
Leucocyte function in normal and preterm infants.
Acta Paediat. Scand. 63, 122 - 124, 1974
13. HUMBERT, J.A., KUTZ, M.L., HATHAWAY, W.E.:
Increased reduction of NBT by neutrophils of newborn infants.
Pediatrics 45, 125 - 128, 1970

14. KIM, S.K., MONS, E., WEHINGER, H.:
NBT-Test ein neues Hilfsmittel für die Diagnostik bakterieller Infekte.
Klin. Paediat. 185, 141 - 146, 1973
15. MACDOUGALL, L.G., ANDERSON, R., MCNAB, G.M., KATZ, J.:
The immune response in iron-deficient children:
Impaired cellular defense mechanisms with
altered humoral components.
J. Pediat. 86, 833 - 843, 1975
16. MATULA, G., PATERSON, P.Y.:
NBT-test in a patient on steroids.
Lancet 1971/I, 803 - 804
17. MILLER, D.R., KAPLAN, H.G.:
Decreased nitroblue tetrazolium dye reduction
in the phagocytes of patients receiving prednison.
Pediatrics 45, 861 - 865, 1970
18. MÜLLER-LISSNER, ST.:
Nitroblau-Tetrazolium-Reduktionskapazität von
neutrophilen Granulozyten im Nabelschnurblut.
Dissertation, Marburg/L., 1975
19. MÜLLER-LISSNER, ST., ESCHENBACH, C., VIEHMANN, E.:
Nitroblau-Tetrazolium-Reduktionskapazität neutrophiler Granulozyten im Nabelschnurblut und
im Blut Gebärender.
Klin. Wschr. 54, 1053 - 1055, 1976

20. NORDEN, C.W., REESE, R.:
Oral contraceptives and the NBT-test.
New Engl. J. Med. 287, 254, 1972
21. NYDEGGER, U.E., MIESCHER, A., ANNER, R.M., CREIGHTON, D.W., LAMBERT, P.H., MIESCHER, P.A.:
Serum and cellular factor involvement in nitro-blue tetrazolium reduction by human neutrophils.
Klin. Wschr. 51, 377 - 382, 1973
22. PARK, B.H., HOLMES, B.M., RODEY, G.E., GOOD, R.A.:
NBT-test in children with fetal granulomatous disease and newborn infants.
Lancet 1969/I 157
23. PARK, B.H.:
The use and limitation of the nitroblue tetrazolium test as a diagnostic aid.
J. Pediat. 78, 376 - 378, 1971
24. RAMSDALE, E.H., MOWBRAY, J.F.:
Positive NBT-test in pregnancy.
Lancet 1973/I, 1245
25. SOLANKI, D.L., CREGAN, B.:
NBT-test in pregnancy.
Lancet 1975/I, 43
26. STOSSEL, T.P.:
Phagocytosis
New Engl. J. Med. 290, 774 - 780, 1974

27. UFER, J.:

Hormontherapie in der Frauenheilkunde.

Walter De Gruyter, Berlin - New York, 1974, 35 - 46

28. WEHINGER, H., KIM, S.K., PRINGSHEIM, W.:

Modified NBT-test in premature infant.

Lancet 1972/I, 1294

7. Lebenslauf

Am 10.07.1944 wurde ich als Tochter des Hauptmanns Heinz Schradin und seiner Ehefrau Luise, geb. v. Forster in Freiburg/Brsg. geboren. Ich bin die Älteste von vier Kindern. Mein Vater ist seit 1950 als Dipl. Ing. Architekt tätig.

Von 1951 - 1955 besuchte ich die Volksschule in Frankfurt/M-Niederursel. Im Frühjahr 1955 wurde ich in die Ziehenschule in Frankfurt/M aufgenommen, an der ich auf dem mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig am 18.02.1965 mein Abitur bestand.

Im Sommer 1965 schrieb ich mich an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt/M für das Studienfach Medizin ein. Dort bestand ich am 22.07.1966 das Vorphysikum und am 25.03.1968 das Physikum. Im April 1968 immatrikulierte ich mich an der Christian-Albrecht-Universität in Kiel. Hier legte ich nach sechs klinischen Semestern am 13.08.1971 mein medizinisches Staatsexamen ab.

Meine Medizinalassistentenzeit begann ich an der Neurologischen und Psychiatrischen Universitätsklinik Mainz. Ich arbeitete dort vom 01.10.-31.12.1971. Vom 01.05.-31.08.1972 war ich an der I. Chirurgischen Klinik und vom 01.09.-31.12.1972 an der I. Medizinischen Klinik des Krankenhauszweckverbandes Augsburg als Medizinalassistentin tätig.

Auf der geburtshilflich-gynäkologischen Station der Klinik St. Elisabeth in Marburg/L. arbeitete ich vom 01.07.1973 - 31.05.1976 als Assistenzärztin.

Seit dem 17.03.1972 bin ich mit dem Assistenzarzt Dr. med. Bernd Viehmann verheiratet. Am 11.02.1976 wurde unser Sohn Christian geboren. Seit Juni 1976 bin ich nicht mehr berufstätig.

8. Verzeichnis meiner akademischen Lehrer

8.1. in Frankfurt/M

Dänzer, Egle, Frick, Greven, Hanke, Heinz, Kretschmann,
Lindauer, Müller, Ried, Ring, Rückemann, Rosenstock,
Royen, Schlüter, Schmidt, Schmidt-Neuroth, Schneider,
Schroeder, Seubert, Stark, Wezler, Zahn.

8.2. in Kiel

Arnd, Bernhard, Bernsmeier, Böhcke, Böke, Borm,
Büttner, Drube, Gärtner, Gottstein, Grahmann, Gremmel,
Gundermann, Hallermann, Hansen, Hein, Hertz, Huber,
Kudlien, Leder, Lennert, Löhr, Lüllmann, Luh, May,
Müller, Müller-Ruchholz, Overbeck, Paetzold, Pfeleiderer,
Proppe, Rohleder, Rohwedder, Sach, Schaefer, Spre-
ter v. Kreudenstein, Störring, Stutte, Uhlmann,
Völkel, Walther, Weisbecker, Wiedemann, Witt, Wulf,
v. Zwieten.

